Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. K. Bernhard)

Vorkommen und Zusammensetzung von Cerebrosiden

in der normalen und arteriosklerotischen menschlichen Aorta und im menschlichen Plasma

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

1962

vorgelegt von
LISBETH HAUSHEER
von Cham/Kt. Zug

VERLAG P. G. KELLER - WINTERTHUR 1964

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. K. Bernhard)

Vorkommen und Zusammensetzung von Cerebrosiden

in der normalen und arteriosklerotischen menschlichen Aorta und im menschlichen Plasma

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
LISBETH HAUSHEER
von Cham/Kt. Zug

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

VERLAG P. G. KELLER - WINTERTHUR 1964

Von der Medizinischen Fakultät genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. K. Bernhard.

Tag der Promotion: 30. Mai 1962

Meinem lieben Vater in Dankbarkeit gewidmet

Herrn Prof. Dr. Karl Bernhard, auf dessen Veranlassung die vorliegende Arbeit entstand, möchte ich an dieser Stelle für seine Unterstützung und Förderung meinen besten Dank aussprechen.

INHALTSVERZEICHNIS

A. Einleitung 7

B. Problemstellung 9

C. Isolierung einer Glykolipidfraktion aus den Gesamtlipiden der Aorta 10

a) Methodik 10
b) Eigenschaften der gewonnenen Glykolipidfraktion 12

I. Die Glykolipide der arteriosklerotischen Aorta 12

1. Plattenchromatographisches Verhalten 12
2. Das Infrarotspektrogramm 14
3. Spaltprodukte der isolierten Cerebroside 14
4. Prüfung auf Reinheit 16

II. Gesunde Aorten 16

III. Vergleich der Aortenglykolipide mit den Plasmaglykolipiden 17

D. Zur Frage des vermehrten Cerebrosidgehaltes bei den verschiedenen Stadien der Arteriosklerose 18

E. Diskussion dieser Befunde 19

F. Zusammenfassung 20

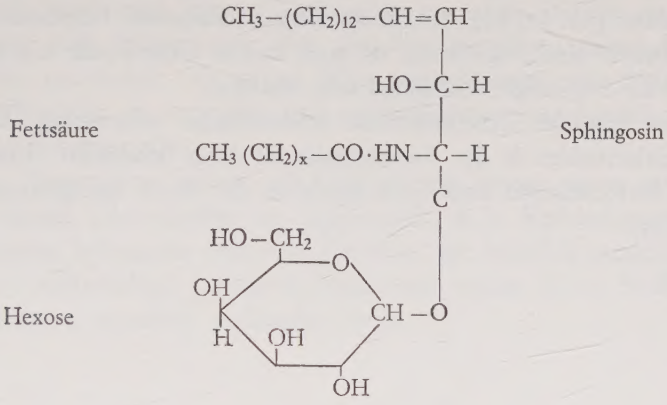
Literaturverzeichnis 21

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0104

A. Einleitung

Cerebroside, deren Name von ihrer Entdeckung im Gehirn stammt, bestehen aus Sphingosin, Galactose oder Glucose und Fettsäuren nach dem in Formel I wiedergegebenen Aufbauprinzip:



Wir finden sie in kleineren Konzentrationen auch in anderen Geweben und Organen des tierischen und menschlichen Körpers. Ihr Vorkommen ist beim Menschen in der Leber (1), in der Niere (1, 2), in der Nebenniere (3), in der Lunge (4), im Thymus (5), in der Milz (6) und in der Retina (13) bekannt. Sie finden sich im menschlichen Blut sowohl im Plasma (7, 8) als auch in den Erythrocyten (9, 10, 11, 12). Auch in zahlreichen Organen und im Blut verschiedener Tiere (14—22) wurden sie festgestellt. Im pathologisch veränderten Gewebe des Menschen ist ihr vermehrtes Auftreten in der Milz und in der Leber beim Morbus Gaucher bekannt (23—27), ferner wurden sie in einem Hypernephrom gefunden (28).

Über das Vorkommen von galactosehaltigen Lipiden in der sklerotischen menschlichen Aorta berichtet erstmals Schönheimer 1925 (29, 30). Er erhielt nach erschöpfender Extraktion mit Äther und Aceton von Aortengewebe mit Alkohol eine protagonartige Substanz, in welcher er nach Hydrolyse Galactose als Osazon nachwies. Dieses galactosehaltige Lipid konnte damals aber nicht isoliert und in seiner Struktur aufgeklärt werden.

Andere Autoren berichten später über das vermehrte Auftreten von Glykolipiden in der sklerotischen Aorta. Dabei werden diese Glykolipide vielfach auf Grund ihres Galactosegehaltes als Cerebroside bezeichnet (31, 32, 33). Solche aus dem Zuckergehalt berechneten Cerebrosidwerte sind fragwürdig, da auch andere Glykolipide wie Ganglioside oder Sulphatide vorhanden sein könnten.

Ein von der Arteriosklerose unabhängiges vermehrtes Auftreten von Galactosiden in der Aortenmedia im Alter beschreibt Hirsch (34). Auch histochemisch sind Glykolipide in der Aorta nachgewiesen worden (35).

B. Problemstellung

Es steht somit fest, dass von verschiedener Seite auf das Auftreten von Cerebrosiden in Lipidgemischen aus Aorten-Material hingewiesen wurde. Eine Abtrennung und Reindarstellung dürfte aber nicht gelungen sein.

Wir haben in diesem Institute vor kurzem ein brauchbares Verfahren zur Isolierung reiner Cerebroside aus dem Gehirn ausgearbeitet (36) und Erfahrungen über die Reindarstellung dieser Lipid-Fraktionen gesammelt. Es schien daher aussichtsreich, das Auftreten von Cerebrosiden in normalen und arteriosklerotischen Aorten durch Isolierung sicherzustellen.

Diese Dissertation befasst sich also mit der Frage, ob es sich bei den erwähnten Glykolipiden um Cerebroside, d. h. Verbindungen aus einer Hexose, Sphingosin und einer Fettsäure pro Molekül handelt oder ob andere zuckerhaltige Lipide vorliegen und welche dieser Stoffe bei Arteriosklerose vermehrt vorhanden sind.

C. Isolierung einer Glykolipidfraktion aus den Gesamtlipiden der Aorta

a) Methodik

Von den kurz nach der Autopsie verarbeiteten gesunden oder sklerotischen Aorten * wurden die Adventitia und der äussere Drittel der Media mit einem Skalpell abgetrennt. Die Intima und der verbleibende Teil der Media wurden mit einer Schere in kleine Stücke geschnitten und anschliessend in Chloroform-Methanol 2:1 homogenisiert **. Die Extraktion erfolgte nun nach Folch (37). Das mit dem 17fachen Volumen (1 g Aorta = 1 ccm) homogenisierte Gewebe wurde filtriert und der Filterrückstand solange mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch durchgewaschen, bis das Filtrat genau das 20fache Volumen des Aortenfrischgewichtes ausmachte. Das Filtrat, das neben den Lipiden auch noch Proteolipide und andere wasserlösliche Stoffe enthielt, wurde zur Entfernung von letzteren und von evtl. vorhandenen Gangliosiden mit einer von Folch beschriebenen Salzlösung gewaschen. Letztere wurde wie folgt erhalten: Wir mischten Chloroform, Methanol und Wasser im Verhältnis 8:4:3, trennten die resultierende obere Phase ab und fügten ihr folgende Salze zu: 0,02 % Calciumchlorid, 0,017 % Magnesiumchlorid und 0,2 % Natriumchlorid.

Dem oben erhaltenen Filtrat wurde eine einem Fünftel seines Volumens entsprechende Menge Salzlösung beigefügt und das Gemisch in einen Scheidetrichter gebracht und geschüttelt. Die obere Phase, die sich nach einiger Zeit klar von der unteren Phase trennte, wurde mit einer Pipette abgesaugt. Darauf wurde mit der gleichen, aber salzfreien Lösung noch dreimal gewaschen. Die Lösung mit den Totallipiden

* Für das Aortenmaterial, das uns von Herrn Prof. Dr. A. Werthemann, Vorsteher des Pathologisch-Anatomischen Institutes zur Verfügung gestellt wurde, danken wir bestens

** Wir verwendeten den Homogenisator Polytron der Firma Max Wullimann, Selzach.

wurde eine Nacht über Natriumsulfat getrocknet und dann unter Vakuum eingedampft.

Nach Böttcher, welcher die verschiedenen Extraktionsverfahren für die Lipidextraktion aus Arteriengewebe untersucht und verglichen hat, werden mit der Methode von Folch mehr als 95 % der Lipide herausgelöst, wobei es sich bei den verbleibenden Lipiden vor allem um Phosphoinositide handelt (38).

Die durch Extraktion erhaltenen Totallipide erfahren eine säulenchromatographische Trennung auf Aluminiumoxyd. Es wurden 300 mg in $CHCl_3$:MeOH 1:1 gelöst und auf eine Aluminiumoxydkolonne (13 g) gebracht, die mit 50 ccm Chloroform-Methanol akklimatisiert wurde. Die unpolaren Lipide und die cholinhaltigen Phosphatide eluierten wir mit 150 ccm Chloroform-Methanol 1:1 und die verbleibenden Lipide anschliessend mit einem von Long und Staples beschriebenen Gradientensystem (39). In ein Mischgefäss wurden 125 ccm Chloroform-Methanol 1:1, in einen Scheidetrichter 135 ccm des gleichen Lösungsmittelgemisches und zusätzlich 15 ccm Wasser gebracht. Aus dem Scheidetrichter kam gleichviel Lösungsmittel in das Mischgefäss wie von diesem auf die Kolonne floss. Die ersten 45 ccm des Gradienten enthielten keine Glykolipide und wurden weggeworfen. In den folgenden 235 ccm kam eine Fraktion, die noch phosphorhaltige Substanzen enthielt, sie wurde auf einer Kieselgelsäule weiter gereinigt. 100 mg in Chloroform gelöste Lipide wurden auf eine Säule von 20 g Silikagel in Chloroform gebracht. Um die restlichen Phosphorlipide zu entfernen, wurde mit einer Kolonnenlänge Chloroform durchgewaschen, und anschliessend wurden die Glykolipide mit acht Kolonnenlängen Chloroform-Methanol 4:1 herausgeholt.

Da die Glykolipide nur einen sehr kleinen Teil der Aortengesamtlipide ausmachen, war für ihre Isolierung unsere für die Hirncerebroside entwickelte Methode weniger geeignet. Daher haben wir in der Folge vor der Chromatographie auf Aluminiumoxyd nach den Angaben von Kishimoto und Radin (40) gearbeitet. 30 g während einer Stunde ausgeglühtes Florisil wurden mit über KOH getrocknetem Äther aufgeschwemmt und auf eine Kolonne gebracht, die einen Durchmesser von 2,2 — 2,8 cm hatte. 1 g Totallipide wurden in 40 ccm Äther gelöst und

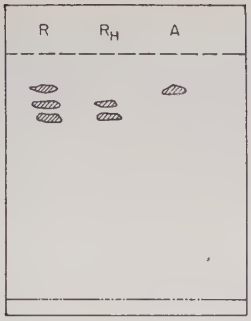
erwärmt und mit 10 g Florisil zusammen auf die Kolonne gebracht. Anschliessend eluierten wir mit einem Liter Äther, wobei vor allem Cholesterin, Neutralfette und ein Teil der Phosphatide sich abtrennten. Die sogenannten Rohcerebroside wurden mit einem Liter Chloroform-Methanol 4:1 eluiert. Diese vorangehende Trennung auf Florisil bietet den Vorteil, dass mehrere Gramme Totallipide gleichzeitig verarbeitet werden können und sich damit ein Zeitgewinn ergibt. Zudem gehen auf der Florisilkolonne keine Lipide verloren. Die Glykolipide befinden sich nur in der Chloroform-Methanol 4:1-Fraktion, auf der Kolonne werden keine zurückgehalten. Die weitere Reinigung erfolgte nach dem oben beschriebenen Verfahren auf Aluminiumoxyd und Silikagel.

b) Eigenschaften der gewonnenen Glykolipidfraktion

I. Die Glykolipide der arteriosklerotischen Aorta

1. Plattenchromatographisches Verhalten

Die isolierte Aortenlipidfraktion wurde auf Kieselgelplatten in einem von Jatzkewitz und Mehl für die Trennung von Hirnlipiden beschriebenen Lösungsmittelgemisch (Propanol-Ammoniak 12,5 % 80: 20) (41) chromatographiert. Hirncerebroside dienten als Test. Diese trennten sich in drei Komponenten. Bei der Aortenglykolipidfraktion erhielten wir nur einen Fleck auf Höhe des schnellst-wandernden Hirncerebrosidanteils. In der Annahme, Aufteilung und Laufgeschwindigkeit der einzelnen Komponenten seien durch verschiedene Fettsäuren bedingt, haben wir die Hirncerebroside hydriert. Damit verschwand die schnellst-wandernde der drei Komponenten. Offenbar ist der grössere R_f-Wert der Aortencerebroside vor allem durch das Vorkommen von vorwiegend ungesättigten Fettsäuren bedingt. Eine Hydrierung der Aortencerebroside gelang in befriedigender Weise nicht. Hydroxysäuren liessen sich in den Aortenglykolipiden gaschromatographisch nicht feststellen. Ihr Fehlen kann auch einen Einfluss auf die Wanderungsgeschwindigkeit haben.



R = Hirncerebroside (Mensch)

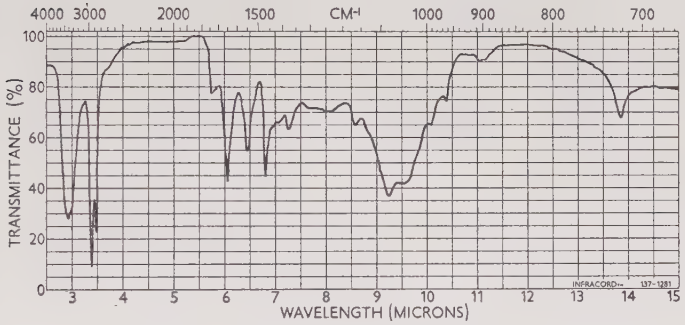
R_H = hydrierte Hirncerebroside

A = Aortenglykolipid
(gesunde oder sklerotische Aorta)

Anfärbung: Bromthymolblau

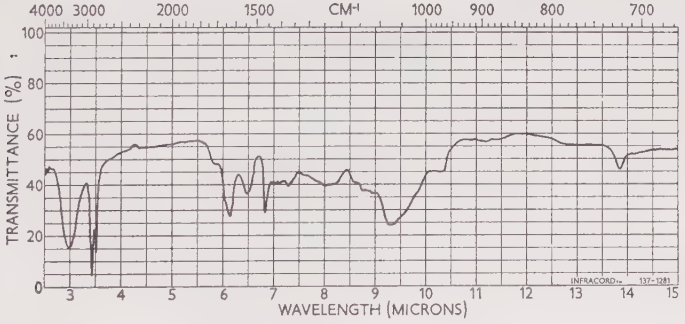
Laufmittel: Propanol/Ammoniak 12,5 % 80:20

Kurve 1: Cerebroside: Aorta



1 mgr in 300 mgr KBr gepresst

Kurve 2: Infrarotspektrogramm. Cerebroside: Menschliches Gehirn, weisse Substanz



1 mgr in 300 mgr KBr gepresst

2. *Das Infrarotspektrogramm*

Die Infrarotspektrogramme (aufgenommen mit dem Infracord-Spektrophotometer der Perkin-Elmer AG, Zürich) unserer Aortencerebroside erwiesen sich mit den Spektrogrammen von menschlichen Gehirncerebrosiden als identisch. Wir fanden alle für Cerebroside typischen Absorptionsbanden (Kurve 1+2).

3. *Spaltprodukte der isolierten Cerebroside*

Sphingosin. Sphingosin wurde mit Natriumfluoreszin auf Papier nach der Methode des Japaners Saito nachgewiesen (42). Sie erlaubt eine sichere Unterscheidung von Sphingosin gegenüber Aminosäuren, was mit Ninhydrin nicht möglich ist. Zur Sphingosinisolierung wurde mit 10 v % Schwefelsäure enthaltendem Methanol 3—4 Stunden im kochenden Wasserbad am Rückflusskühler hydrolysiert, der Niederschlag abgenutscht, das Filtrat nach Zugabe von etwas Wasser mit Petroläther ausgeschüttelt, nach Zugabe von mehr Wasser im siedenden Wasserbad wieder erhitzt und schliesslich in einer Schale eingeengt. Beim Erkalten hat sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine weisse Masse abgeschieden, die das Sphingosin enthielt. Letzteres wurde in wenig Wasser gelöst auf Filterpapier gebracht. Das Papier wurde mit einer 0,25 % wässerigen Natriumfluoreszinlösung besprüht, es entwickelten sich orangefarbene Flecken, die beim Eintauchen des Papiers in Wasser erhalten blieben. Durch Aminosäuren hervorgerufene Flecken müssten beim Wässern verschwinden.

Zucker. 10 mg Cerebroside wurden 90 Minuten mit 2 ccm 3 n Salzsäure im siedenden Wasserbad hydrolysiert (43). Nach Abkühlen wurde filtriert und mit Wasser nachgewaschen. Fettsäuren und Sphingosin blieben auf dem Filter, der Zucker im Filtrat wurde beim Eindampfen des letzteren als gelber Rückstand erhalten. Er wurde auf Papier aufgetragen und absteigend in Phenol chromatographiert. Durch Entwickeln des Chromatogrammes mit Anilinphtalat konnten Flecken auf Höhe der Glucose- und Galactose-Testsubstanz nachgewiesen werden (44). Da ein Gemisch von Zuckern vorlag, war die Anthronzuckerbestimmung (45),

die sich bei den Hexosebestimmungen in Hirncerebrosiden, wo nur Galactose vorliegt, ausgezeichnet eignet, nicht anwendbar. Indessen eignete sich die Farbreaktion mit o-Aminodiphenyl (46) in diesem Falle gut. Nach der oben beschriebenen Hydrolyse wurde 1 ccm wässerige Zuckerlösung mit einer Konzentration von 10—500 γ/ccm in ein Reagenzglas mit Schliffstopfen pipettiert und 5 ccm einer 0,4 %igen Lösung von o-Aminodiphenyl in Eisessig dazugegeben. Die Reagenzgläser wurden in ein siedendes Wasserbad gebracht und nach einer Minute verschlossen. Darin blieben sie 45 Minuten, wobei sich eine grüne Farbe entwickelte. Die Absorption wurde bei 380 μm gemessen. Wir fanden einen Gesamtzuckergehalt von 20,1 %. Die Glucose wurde fermentativ mit Glucoseoxydase unter Verwendung des Reagenz von Boehringer * bestimmt. Im Hydrolysat von mehreren zusammen verarbeiteten sklerotischen Aorten ergab sich ein Glucose/Galactoseverhältnis von 3:8.

Fettsäuren. Zur Abtrennung der Fettsäuren wurden die Cerebroside mit 10 v % Schwefelsäure enthaltendem Methanol 6 Stunden bei 90° hydrolysiert. Anschliessend wurde mit Petroläther extrahiert, dieser eingedampft und der Rückstand in Äther gelöst. Die mit Diazomethan gewonnenen Methylester wurden auf Kieselgelplatten mit Dichloraethan nach Jatzkewitz chromatographiert (41). Zum Vergleich dienten aus Hirncerebrosiden gewonnene Fettsäuren und synthetisch hergestellte α-monohydroxy-Stearinsäure. Dabei liessen sich normale gesättigte und ungesättigte Fettsäuremethylester erkennen. Auch waren plattenchromatographisch Hydroxyfettsäuremethylester nachzuweisen, aber nur in verschwindend kleiner Menge. Letzterer Befund resultierte auch bei der Abtrennung der gewöhnlichen Fettsäuren von den Hydroxysäuren auf einer Kieselgelsäule mit Äthylenchlorid, wobei wir 98 % der aufgetragenen Fettsäure in der Fraktion der gewöhnlichen und nur 2 % Hydroxyfettsäuren fanden. Damit ergibt sich ein ausgeprägter Unterschied gegenüber den Hirncerebrosidfettsäuren, wo die Hydroxysäuren mehr als 50 % der Gesamtfettsäuren ausmachen. Die isolierten Fettsäuren wurden auch gaschromatographisch untersucht. Dabei interessierte uns vor allem das Vorhandensein von C_{24}-Säuren. Sie waren jedoch im Vergleich zu den kürzerkettigen Fettsäuren und im Vergleich zum grossen Anteil

* Biochimica Boehringer: Blutzuckertest, Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim.

von C_{24}-Säuren in den Hirncerebrosiden in viel kleinerer Menge vorhanden.

Stickstoffgehalt. Der Stickstoffgehalt beträgt 1,68 %.

4. Prüfung auf Reinheit

Neuraminsäure. Wir arbeiteten nach der Methode von Böhm, Dauber und Baumeister (47). Bis zu 150 γ unserer Glycolipidsubstanz wurden in ein Reagenzglas eingewogen, worauf wir 1 ccm Wasser und 1 ccm Bial's Orcinolreagenz (0,02 % $FeCl_3$ + 0,2 % Orcinol in 8 n HCl) beifügten. Die Mischung wurde 15 Minuten in siedendem Wasserbad erhitzt, in Eiswasser abgekühlt und mit 4 ccm Amylalkohol ausgeschüttelt. Nach Zentrifugieren wurde die obere violette Phase entfernt und 3,5 ccm davon in eine Cuvette mit 0,05 ccm Äthanol gebracht. Die Extinktion wurde bei 570 μ m gemessen. Der Nachweis von Neuraminsäure gelang nicht *.

Hexosamin. Weder nach der Methode von Bogoch (48) noch nach derjenigen von Blix (49) konnten wir Hexosamin nachweisen.

Schwefel. Da die Cerebroside zum Teil als Sulphatide vorliegen können, prüften wir unsere Substanz auf das Vorhandensein von Schwefel. Wir fanden 0,7 % S, d. h. ein Teil der Aortencerebroside liegt als Sulfatester vor.

Phosphor. Eine Verunreinigung durch Phosphatide lag nicht vor, eine Phosphorbestimmung mit p-Aminodiphenyl-aminhydrochlorid nach Dryer ergab keinen Phosphor (50).

II. Gesunde Aorten

Aus den Gesamtlipiden gesunder Aorten konnte eine Fraktion erhalten werden, die sich plattenchromatographisch gleich wie die Fraktion aus den sklerotischen Aorten verhielt. Die Hydrolyse lieferte Glucose,

---

* Herr Prof. Klenk in Köln hatte uns in freundschaftlicher Weise Proben von Neuraminsäuren zur Verfügung gestellt, wofür wir verbindlichst danken.

Galactose, Sphingosin und Fettsäuren. Da nur sehr kleine Mengen in normalen Aorten vorkommen, waren Einzeluntersuchungen nicht möglich, auch konnten nicht genügende Mengen von Fettsäuren für eine gaschromatographische Analyse gewonnen werden.

III. Vergleich der Aortenglykolipide mit den Plasmaglykolipiden

Menschliches Plasma wurde lyophilisiert und zur Extraktion der Lipide die Methode von Svennerholm (8) angewendet. Das getrocknete Plasma wurde mit Chloroform-Methanol 2 : 1 eine halbe Stunde gekocht, abfiltriert und die Lösung nach Zugabe einer der Plasmalösung äquivalenten Menge Wassers nach Folch gewaschen. Die Totallipide trennten wir dann auch über Florisil, Aluminiumoxyd und Silikagel in die einzelnen Komponenten. Das plattenchromatographische Verhalten ist demjenigen der Aortenglykolipidfraktion identisch. Als Spaltprodukte nach Hydrolyse liessen sich Sphingosin und Fettsäuren nachweisen. Der Hexoseanteil bestand laut mehreren papierchromatographischen Analysen ausschliesslich aus Glucose. Dieser Befund steht im Gegensatz zu jenem von Svennerholm (8), welcher bei seinen Plasmacerebrosiden nur Galactose gefunden hat.

Das Vorhandensein und die Zusammensetzung der Cerebroside im Plasma interessierte uns vor allem in bezug auf die Vergleichsmöglichkeit mit den in der Aortenwand gefundenen Cerebrosiden. Da die im Plasma vorhandenen Cerebroside keine Galactose enthalten, ist es wenig wahrscheinlich, dass sie in die Aortenwand eingeschwemmt werden. Man kann aber auch annehmen, dass nur die Glucose-haltigen Cerebroside der Aortenwand durch Einschwemmung aus dem Plasma entstanden sind und dass die Galactose-haltigen Cerebroside in der Aortenwand selbst synthetisiert worden sind.

D. Zur Frage des vermehrten Cerebrosidgehaltes bei den verschiedenen Stadien der Arteriosklerose

Während die Cerebroside in der unveränderten Aorta in so kleinen Mengen vorkommen, dass ihre Isolierung nur aus einer menschlichen Aorta nicht möglich ist, lassen sie sich aus einzelnen sklerotischen Aorten nach der oben beschriebenen Methode gut isolieren. Es konnte deutlich gezeigt werden, dass der Cerebrosidgehalt mit steigender Arteriosklerose zunimmt.

Bezeichnung	Totallipide	% v. Frischgewicht	Cerebroside	% v. Totallipiden
A_1 (Stad. I)	598,1 mg	2,9 %	11,3 mg	1,89 %
A_2 (Stad. II)	1,4653 g verarb. 667,6 mg	4,77 %	16,2 mg	2,43 %
A_3 (Stad. III)	1,88 g	6,56 %	24,7 mg	2,85 %
$A_{4,5,6}$ (Stad. I, II u. III)	3,6196 g verarb. 1,0868 g	7,72 %	18,1 mg	1,94 %
$A_{7,8,9}$ (Stad. o)	1,4556 g verarb. 931,7 mg	2,84 %	17,9 mg	1,23 %

Bei der Einteilung der Arteriosklerosestadien haben wir uns an das Schema der WHO gehalten, das makroskopisch folgende Sklerosegrade abgrenzt:

Stad. I: Fettstreifen oder Flecken

Stad. II: fibröse Plaques oder Atheromata

Stad. III: wie II plus Ulceration, Nekrose, Thrombose, Haemorrhagie.

E. Diskussion dieser Befunde

Über die Bedeutung der Cerebroside in den Organen ist abgesehen von den Cerebrosiden des Gehirnes, welche einen Teil der Myelinscheiden bilden, nichts bekannt. Auffallend ist, dass man sie in parenchymatösen Organen (Leber, Niere usw.) in nur ganz geringen Mengen findet und ihr Vorkommen ausserhalb vom Gehirn sich vor allem auf Gewebe mesodermalen Ursprunges beschränkt (Bindegewebe, Blut).

Wie bereits erwähnt scheint uns eine Synthese dieser Stoffe in der Aortenwand wahrscheinlich. Sie sind, wie gezeigt wurde, bei arteriosklerotischer Gefässwand vermehrt, und zwar nehmen sie stärker zu als die anderen eingelagerten Lipide.

Da für die Pathogenese der Arteriosklerose von verschiedener Seite eine subklinische Entzündung verantwortlich gemacht wird, können wir die vermehrte Cerebrosidsynthese in der erkrankten Aortenwand durch entzündliche Proliferation jener mesenchymalen Zellen deuten, die die Cerebroside bilden.

F. Zusammenfassung

Anhand einer an diesem Institut ausgearbeiteten Cerebrosidisolierungsmethode wurde aus gesunden und arteriosklerotisch veränderten menschlichen Aorten und aus menschlichem Plasma eine Glykolipidfraktion isoliert, deren Spaltprodukte Sphingosin, Glucose und Galactose und ein Gemisch von verschieden langkettigen Fettsäuren sind. Bei den Fettsäuren handelt es sich vor allem um ungesättigte Fettsäuren, während Hydroxysäuren, wie sie in Hirncerebrosiden vorkommen, nur in sehr geringen Mengen nachzuweisen waren. Während diese als Cerebroside zu bezeichnenden Verbindungen in der unveränderten Aorta nur in sehr geringen Mengen vorkommen, sind sie in der sklerotischen Aortenwand vermehrt vorhanden. Ihr Anteil steigt mit zunehmender Sklerose stärker an als derjenige der anderen eingelagerten Fette. Die gleichen Fraktionen kommen im Plasma und in der Aortenwand vor. Da im Plasma nur Glucose-haltige, in der Aortenwand aber Glucose- und Galactose-haltige Cerebroside vorkommen, ist eine Synthese dieser Stoffe in der Aortenwand anzunehmen. Ob bei den Arteriosklerotikern die Plasmacerebroside auch vermehrt sind, ist nicht bekannt. Eine Korrelation mit den einzelnen Sklerostadien wäre insofern nicht möglich, als den pathologisch-anatomischen Veränderungen keine definierten klinischen Zeichen entsprechen. Ausser Cerebrosiden wurden keine Glykolipide in den Lipiden der Aortenwand gefunden.

Die in dieser Arbeit mitgeteilten Cerebrosidwerte dürften in Wirklichkeit um 10—20 % höher liegen, da das Isolierungsverfahren bestimmte gleichbleibende Verluste einschliesst, die im Falle der Gehirncerebroside 15% nicht überschreiten. Diese Feststellung berührt indessen das bewiesene Vorkommen solcher Verbindungen und deren Vermehrung bei Arteriosklerose wenig.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Levene P. A. u. West C. J., J. biol. Chem. **31**, 649 (1917).
2. Rosenheim O. u. McLean H., Biochem. J. **9**, 103 (1915).
3. Rosenheim O. u. Tebb M. C., J. Physiol. **38**, Proc. IV (1909).
4. Sammartino U., Biochem. Z. **124**, 234 (1921).
5. Lilienfeld L., Z. physiol. Chem. **18**, 473 (1894).
6. Hoppe-Seyler F., Med. chem. Untersuchg., herausgeg. von Hoppe-Seyler, Heft **2**, 215 (1871).
7. Brückner J., Z. physiol. Chem. **268**, 251 (1941).
8. Svennerholm L., Scand. clin. Lab. invest. **10**, 97 (1958).
9. Pascucci O., Beiträge chem. Physiol. Pathol. **6**, 543 (1905).
10. Bang J. u. Forssman J., Beiträge chem. Physiol. Pathol. **8**, 238 (1906).
11. Kirk E., J. biol. Chem. **123**, 637 (1938).
12. Hakomori S. J. u. Jeanloz R. W., J. biol. Chem. **236**, 2827 (1961).
13. Cahn A., Z. physiol. Chem. **5**, 213 (1881).
14. Walz E., Z. physiol. Chem. **166**, 210 (1927).
15. Mallow S., McKibbin J. M. u. Robb J. S., J. biol. Chem. **201**, 825 (1953).
16. Marchetti E., Rass. clin. terap. sci. affini **48**, 1 (1949).
17. Kaucher M., Galbraith H., Button V. u. Williams H. H., Arch. Biochem. **3**, 203 (1943).
18. Williams H. H., Galbraith H., Kaucher M., Moyer E. Z., Richards A. J. u. Macy J. G., J. biol. Chem. **161**, 475 (1945).
19. Klenk E., Z. physiol. Chem. **295**, 164 (1953).
20. Klenk E. u. Lauenstein K., Z. physiol. Chem. **288**, 220 (1951).
21. Klenk E. u. Lauenstein K., Z. physiol. Chem. **291**, 249, 259 (1952).
22. Burt N. S. u. Rossiter R. J., Biochem. J. **46**, 569 (1950).
23. Lieb H., Z. physiol. Chem. **140**, 305 (1924).
24. Lieb H., Z. physiol. Chem. **170**, 60 (1927).
25. Lieb H. u. Mladenovic M., Z. physiol. Chem. **181**, 208 (1929).
26. Halliday N., Duel H. J., Tragermann L. J. u. Ward W. E., J. biol. Chem. **132**, 171 (1940).
27. Rosenberg A. u. Chargaff E., J. biol. Chem. **233**, 1323 (1958).
28. Schönheimer R., Z. physiol. Chem. **168**, 146 (1927).
29. Schönheimer R., Z. physiol. Chem. **160**, 61 (1925).
30. Schönheimer R., Z. physiol. Chem. **177**, 143 (1928).
31. Hevelke G., Dtsch. Arch. Klin. Med. **203**, 528 (1956).
32. Böttcher C. J. F., J. Atherosler. Research **1**, 36 (1961).
33. Buck R. C. u. Rossiter R. J., Arch. Path. **51**, 224 (1951).
34. Hirsch E. F., Trans. Amer. Therap. Soc. **49**, 113 (1948).

35. Randerath E. u. Diezel P., Dtsch. Arch. Klin. Med. **205**, 523 (1959).
36. Hany A., Hausheer L. u. Bernhard K., Helv. Physiol. Acta **19**, C 75 (1961).
Hany A., Diss. med. Basel 1961.
Bernhard K., Hany A., Hausheer L. u. Pedersen W., Helv. Chim. Acta, im Druck.
37. Folch J., Lees M. u. Stanley S. G. H., J. biol. Chem. **226**, 497 (1957).
38. Böttcher C. J. F., Keppler J. G., Romeny-Wachter C. C., Boelsma-van Houte E. u. Gent C. M., Rec. Trav. Chim. **78**, 794 (1959).
39. Long C. u. Staples D. A., Biochem. J. **73**, 7 P (1959).
40. Kishimoto Y. u. Radin N. S., J. Lipid Res. **1**, 72 (1959).
41. Jatzkewitz H. u. Mehl E., Z. physiol. Chem. **320**, 251 (1960).
42. Saito K., Japan. J. Biochem. **47**, 573 (1960).
43. Thierfelder H. u. Klenk E.: Chemie der Cerebroside und Phosphatide, Springer-Verlag Berlin 1930.
44. Cramer F., Papierchromatographie p. 69, Chemie-Verlag Weinheim 1953.
45. Radin N. S., Lavin F. B. u. Brown J. R., J. biol. Chem. **217**, 789 (1955).
46. Timell T. E., Glaudemans C. P. J. u. Currie A. L., Analyt. Chem. **28**, 1916 (1956).
47. Böhm P., Dauber St. u. Baumeister L., Klin. Therap. Wschr. **32**, 289 (1954).
48. Bogoch S., Biochem. J. **68**, 319, (1958).
49. Blix G., Acta Chem. Scand. **2**, 467 (1948).
50. Dryer R. L., Tammes A. R. u. Routh J. I., J. biol. Chem. **225**, 177 (1957).